

**Eiweißfraktionen
(Transferrin, α_1 -Anti-Trypsin) im Serum
als Parameter
für die Vollwertigkeit einer Formeldiät**

Günter Dieter Philipp

1975

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität München
Direktor: Prof. Dr. N. Zöllner

EIWEISSFRAKTIONEN (TRANSFERRIN, α_1 -ANTI-TRYPSIN) IM
SERUM ALS PARAMETER FÜR DIE VOLLWERTIGKEIT EINER
FORMELDIÄT

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der Zahnheilkunde
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Günter Dieter PHILIPP
aus
Untermünkheim

1975

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität München



Berichterstatter: Priv. Doz. Dr. G. Wolfram

Mitberichterstatter: Prof. Dr. N. Zöllner

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 15. Juli 1975

Gliederung

	Seite
I. Einleitung	1
II. Methodik	5
III. Ergebnisse	11
IV. Diskussion	26
V. Zusammenfassung	33
VI. Literaturverzeichnis	34

I. Einleitung

Unter Formeldiät versteht man eine synthetische Nahrung, die aus einzelnen, in ihrer chemischen Zusammensetzung möglichst genau definierten Nährstoffen zusammengestellt wird. Auf diese Weise können Eiweiß, Kohlenhydrate oder Fett in ihren Anteilen an der gesamten Energiezufuhr gezielt verändert und ausgetauscht werden, ohne daß die anderen Bestandteile dieser Nahrung eine Veränderung erfahren.

In der Therapie (1,37) bestimmter Krankheiten des Magen - Darmtraktes und in der Ernährungsforschung nimmt die Formeldiät einen breiten Raum ein. Ein wichtiges Interesse hat die Forschung hierbei für die Aussage über die Vollwertigkeit der Nahrung in bezug auf die einzelnen Werte des Stoffwechsels, seiner Substrate und die entsprechenden Funktionen.

Die konventionelle Ernährungsmethode und Zusammensetzung der Nahrung ist für die Studien von Stoffwechselkrankheiten schlecht geeignet, da nur eine unzureichende Kontrolle über die Nahrungszusammensetzung, die Anzahl der Kalorien und den zeitlichen Ablauf gegeben ist. Außerdem kann die Zusammensetzung von Eiweiß, Fett und Kohlenhydraten nur ungenügend variiert werden. Wie aus der Definition der Formeldiät hervorgeht, entspricht sie diesen Forderungen und ist somit für derartige Studien verwendbar.

Frühere Untersuchungen über Formeldiät haben ergeben, daß das Gesamteiweiß und einzelne Eiweißfraktionen, bestimmt nach dem Elektrophoreseverfahren, keine wesentliche Veränderung erfahren. Diese Tatsache kann dafür sprechen, daß diese Methode hierfür ungeeignet ist, oder daß die Kost vollwertig war. Sie sagen somit als Parameter für die Eiweißsynthese und damit verbunden für die Vollwertigkeit der Formeldiät nichts aus.

Die von uns durchgeführten Untersuchungen am normalgewichtigen, gesunden Menschen sollten zeigen, ob die verwendete isocalorische Formeldiät vollwertig ist. Der Anteil dieser Arbeit besteht in der Untersuchung des Gesamteiweißes und der einzelnen Fraktionen nach der Elektrophoresemethode und in der Untersuchung von Transferrin und α_1 -anti-Trypsin nach der RID - Methode (Radiale Immundiffusion) als Parameter für die Eiweißsynthese und damit für die Vollwertigkeit der Formeldiät.

Einige Arbeiten, unter anderem von RENTSCH (3) weisen darauf hin, daß Transferrin, ein sogenanntes Spurenprotein, sich als empfindlicher Parameter bei gewissen Stoffwechselerkrankungen ergeben hat (näheres siehe bei Beschreibung von Transferrin). α_1 -anti-Trypsin sollte unter demselben Aspekt wie Transferrin betrachtet werden.

Chemie und Funktion von Transferrin

Transferrin (4) (Siderophilin (5)) gehört zu der Fraktion der β -Globuline und hat ein Molekulargewicht von 88000. Peptidgehalt 95 %. Fett 5,8 % (6). Über seine Normalkonzentration im menschlichen Körper gibt es verschiedene Angaben. 200 - 320 mg % (7, 8 u.a.); 200 - 400 mg % (7). Untersuchungen nach der RID - Methode ergaben eine gute Übereinstimmung der Normalwerte für Transferrin mit den Werten von colorimetrischen und radioisotopen-technischen Transferrinbestimmungsmethoden. Der Normalwert liegt bei 296 mg % mit einer mittleren Abweichung von 38 (3, 7, 9).

Das metallbindende Transferrin unterliegt einem ständigen Anabolismus und Katabolismus. Die Halbwertszeit beträgt zwischen 6 und 12 Tagen, wie Untersuchungen von GITLIN (10) ergaben. Über den Bildungsort des Transferrin besteht noch keine endgültige Klarheit (10).

Seiner Funktion nach gehört Transferrin zu den Transport - bzw. Vehikelpoteinen. Der Ausfall von Transportproteinen kann zu schweren Stoffwechselkrankheiten führen (11).

Transferrin bildet leicht dissozzierende Eisen-Transferrin-Komplexe, welche ein nicht toxisches, schnell verfügbares Eisendepot im Blut darstellen (12). Außerdem ist es an der Bildung von Erythrozyten im Knochenmark und RES beteiligt (13).

Transferrin stellt in der Diagnostik einen wesentlichen Parameter dar (3). Eine Vermehrung des Transferrins im

Serum ergibt sich bei Eisenmangelsituationen oder Gravidität. Eine Verminderung bei Neoplasien, akut- und chronisch-entzündlichen Erkrankungen, hämolytischen Syndromen, chronischen Lebererkrankungen einschließlich der Hämochromatose (3) und beim nephrotischen Syndrom (3, 14). Ebenfalls kann es zum Parameter für den Therapieerfolg von Eisengaben dienen.

Chemie und Funktion von α_1 -anti-Trypsin

α_1 -anti-Trypsin gehört zu der Eiweißfraktion der α_1 -Globuline und hat ein Molekulargewicht von 45000. Peptidgehalt 86 %. Kohlenhydrate 12,4 % (6). Sein Gehalt im normalen Plasma wird mit 210 - 500 mg % angegeben (16). Nach anderen Angaben (7, 17) beträgt die Variationsbreite 200 - 400 mg % bei einem Durchschnittswert von 290 mg %. Die biologische Halbwertszeit ist bei 5 - 6 Tagen festgestellt worden (15). Seiner biologischen Funktion nach gehört es zu den Antiproteinasen. Es besitzt eine breite Substratspezifität bzw. ein weites Wirkungsspektrum (18). Es inaktiviert Trypsin und Chymotrypsin in stöchiometrischen Reaktionen. Zudem inhibiert es Plasmin als sogenanntes Progressiv-Antiplasmin (19). In der akuten Phase von entzündlichen Prozessen tritt eine charakteristische Vermehrung von α_1 -anti-Trypsin ein (14, 20 u.a.), deshalb zählt man es auch zu den "Entzündungsproteinen". Die physiologisch wichtigste Funktion

ist sicher seine Antiplasminwirksamkeit, da dieses Enzym die stärkste Protease menschlichen Plasmas ist (16).

II. Methodik

Wie schon in der Einleitung erwähnt, hat die Übliche Nahrung nicht die Eigenschaften, die für einen kontrollierten Ernährungsversuch benötigt werden. Deshalb wurde eine flüssige Diät (Formeldiät) mit exakt definierter Zusammensetzung zugeführt. Der Versuchsablauf und die Nahrungszusammensetzung finden im folgenden ihre Beschreibung:

Zu dem insgesamt 59 Tage dauernden Versuch wurden 6 gesunde männliche Studenten mit annäherndem Normalgewicht herangezogen. Die 6 Probanden werden im folgenden mit den Buchstaben A, B, C, D, E, F, bezeichnet. Bedingung für die Eignung zum Versuch waren normale Werte der Üblichen klinisch-chemischen Untersuchungsmethoden. Zwei Wochen vor Versuchsbeginn wurde durch ein tägliches Nahrungsprotokoll die jeweilige Kalorienaufnahme bestimmt. Die Formeldiät sollte so abgestimmt sein, daß während des Versuchs weder eine Gewichtsabnahme noch -zunahme eintrat. Aus den Voruntersuchungen ergab sich eine durchschnittliche Kalorienzufuhr von 3000 Kcal pro Tag. Auf diese Menge wurde dann die Formeldiät eingestellt. Der Formeldiät-Versuch dauerte 6 Wochen (42 Tage) und wurde in 2 Perioden aufgeteilt.

1. Periode : 21 Tage "Fettreiche Nahrung"	2. Periode : 21 Tage "KH-reiche Nahrung"
--	---

Um festzustellen, ob Veränderungen durch die jeweils verabreichte kh-reiche bzw. fettreiche Formeldiät verursacht und nicht eine Folge der Zeit oder anderer sich auswirkender Faktoren sind, begannen die Probanden A, B, C, mit der 1. Periode (fettreiche Nahrung) und wechselten nach 21 Tagen ohne Pause zur 2. Periode (kh-reiche Nahrung). Bei den Personen D, E, F, war es umgekehrt.

Die folgende Tabelle (Seite 7) vermittelt einen Überblick über die Gesamtnahrung in Bezug auf die genaue Zusammensetzung der einzelnen Bestandteile in Gramm und die prozentualen Kalorienanteile von Eiweiß, Fett, Kohlenhydrate.

Als Eiweiß fand Magermilchsprühpulver Verwendung. Der Eiweißanteil blieb mit 15 % konstant. Dies entspricht bei 3000 Kalorien einer Versorgung von 15,5 g Eiweiß/kg Körpergewicht (70 kg). Während der fettreichen Periode wurde Butter als Fett- und Maltodextrin als Kohlenhydratanteil genommen. Das Safloröl wurde zur Versorgung mit mehrfach ungesättigten Fettsäuren beigegeben.

Die Nahrungsbestandteile wurden jeweils mit 1 Liter Wasser zu einem Brei verquirlt. Zusätzlich durfte Wasser, Mineralwasser, schwarzer Kaffee und schwarzer Tee in beliebiger Menge getrunken werden, da diese Flüssigkeiten die Energie-

Zusammensetzung der Formeldiät

(Bestandteile in Gramm, insgesamt jeweils 3000 kcal; Anteil von Eiweiß, Fett, KH, in kcal %)

fettreich

Bestandteile	Eiweiß	Fett	KH	Cal	Cholesterin (mg)	SAFA	MUFA	PUFA
Milchpulver	108,5	3,1	161,2	1147,0	-	2,16	0,61	0,03
Maltodextrin	-	-	13,2	77,4	-	-	-	-
Butter	1,3	184,9	0,7	1719,9	620	128,13	36,60	1,67
Safloröl	-	6,0	-	55,8	-	0,65	0,65	4,10
Summe	110,3	194,0	180,8	3000,1	620	130,94	37,87	5,80
kcal	15 %	60 %	25 %		P/S 0,04			

kohlenhydratreich

Bestandteile	Eiweiß	Fett	KH	Cal	Cholesterin (mg)	SAFA	MUFA	PUFA
Milchpulver	108,5	3,1	161,2	1147,0	-	2,16	0,61	0,03
Maltodextrin	-	-	414,7	1697,8	-	-	-	-
Butter	0,1	8,3	-	78,0	28	5,73	1,65	0,07
Safloröl	-	8,3	-	77,0	-	0,90	0,90	5,70
Summe	108,6	19,7	575,9	2999,8	28	8,84	3,16	5,80
kcal	15 %	5 %	30 %					

zusätzlich: 2 gr. NaCl; 1 gr. KCl; 590 mg Cholesterin.

SAFA = saturated fatty-acid = gesättigte Fettsäuren

MUFA = monounsaturated fatty-acid = einfach ungesättigte Fettsäuren

PUFA = polyunsaturated fatty-acid = mehrfach ungesättigte Fettsäuren

bilanz nicht beeinflussen. Um keine Hypovitaminosen entstehen zu lassen, wurde pro Person und Tag je eine Kapsel des Vitaminkombinationspräparates Multibionta (Merck) verabreicht. Zusätzliche Eisenpräparate wurden nicht gegeben. Die Nahrung wurde in drei gleiche äquikalorische Portionen aufgeteilt, die jeweils morgens, mittags und abends oder gleichmäßig über den ganzen Tag verteilt zu essen waren.

Im Wechsel von jeweils 3 und 4 Tagen (2 mal pro Woche) wurde morgens vor Aufnahme der ersten Nahrung venöses Nüchternblut entnommen. Der Gehalt von Transferrin und α_1 -anti-Trypsin wurde sofort anschließend aus dem gewonnenen Serum bestimmt.

Zur Bestimmung der Ausgangs- und Endwerte von Transferrin und α_1 -anti-Trypsin bei Normalernährung wurde 7 Tage vor Versuchsbeginn, am Morgen des Versuchsbeginns, 4 Tage und 11 Tage nach Versuchsende ebenfalls Blut entnommen.

Das Gesamteiweiß und die Einzelfraktionen wurden bei allen 6 Probanden zunächst vor Versuchsbeginn und dann während des Versuches, nach 10 und nach 42 Tagen Formeldiät, bestimmt. Als Methode wurde die Elektrophorese auf Membranfolien verwendet.

Für Transferrin und α_1 -anti-Trypsin wurden die "M-Partigen - Immundiffusionsplatten zur quantitativen Plasmabestimmung" sowie das zur Eichkurve notwendige, stabilisierte Standardhumanserum "Standard X" von der Firma Behring-Werke AG, Marburg, bezogen.

Bestimmung des Gesamteiweißes und der Einzelfractionen

Elektrophorese:

Die von uns angewandte Elektrophorese beruht auf einem Verfahren mit Membranfolien. (Acetatgelfolien von Satorius). Diese Technik geht aus der von KOHN (22) entwickelten Methode hervor. Die Trennung erfolgte mit einem Gerät von Boskamp, die Auswertung mit Zeiss und die Färbung mit Amidoschwarz. Als Puffer wurde eine im Hause hergestellte Lösung mit einem pH-Wert von 8,6 genommen. Die aus Tabelle 1 ersichtlichen Normwerte wurden eigens anhand des Puffers ausgetestet.

Näheres über theoretische Grundlagen der Elektrophorese und die angewandte Labortechnik sind bei (21) nachzulesen.

Bestimmung des Transferrin und α_1 -anti-Trypsin

Die zur Bestimmung der Hauptproteinfraktionen des menschlichen Plasmas üblichen Elektrophoreseverfahren sind zum Nachweis von Spurenproteinen nicht geeignet. Zu viele Proteine haben dieselbe oder eine sehr ähnliche elektrische Ladung. So kann man allein 20 gut charakterisierte Proteine im β -Globulin-Bereich der Elektrophorese lokalisieren.

Immunologische Methoden (7, 23, 24, 25) sind dagegen gut geeignet. Sie beruhen auf der Verwendung von Antiseren, die spezifisch das jeweilige Protein binden.

Einfache radiale Immundiffusion (RID). Methode nach MANCINI, CARBONARA und HEREMANS (26).

Prinzip:

In einer antiserumhaltigen Agargelschicht befinden sich gleich große Auftragstellen, in die die verschiedenen Antigenlösungen (Standard- und Probandensera) eingefüllt werden. Das Antigen diffundiert radial in die Gelschicht und bildet beim Zusammentreffen mit seinem korrespondierenden Antikörper ein ringförmiges Präzipitat, dessen Lage und Größe sich nach beendeter Diffusion nicht mehr verändert. Unterschiedliche Reaktionstemperatur beeinflusst das Meßergebnis nicht. Die Fläche des um die Auftragstelle entstandenen Präzipitatkreises ist der Antigenkonzentration direkt proportional (7, 25, 27).

Trägt man die Kreisfläche πr^2 (= Fläche der Auftragstelle und Fläche des Präzipitates) als Funktion der Antigenmenge Q_{AG} (= Antigenkonzentration x Volumen der Antigenlösung) in einem Koordinatensystem auf, so resultiert eine geradlinige Beziehung, die der Gleichung

$$\pi r^2 = K \cdot Q_{AG} + S$$

gehört.

Der Schnittpunkt S der Geraden mit der Ordinate stellt eine Funktion der Größe der Auftragstelle dar, die Steigung K ist umgekehrt proportional der Antiserumkonzentration im Gel, sowie dessen Schichtdicke.

Durch geeignete Standardisierungsmaßnahmen gelingt es, diese in K und S enthaltenen Variablen konstant zu halten, so daß der zu messende Radius bzw. Durchmesser des

Präzipitatkreises lediglich eine Funktion der aufgetragenen Antigen-Menge ist. Füllt man bei allen Standard-Analysenproben genau gleiche Volumina der Antigenlösung in die Startlöcher, so erhält man über eine mit Hilfe standardisierter Proteinpräparate aufstellbare Bezugskurve die Antigen-Konzentration einer Analysenlösung (7).

Eine genaue Anleitung über die Labortechnik dieser Methode steht in der Literatur (7, 27, 28).

III. Ergebnisse

Tabelle 1 (Seite 12)

Plasmaeiweißwerte bei normaler Ernährung und bei Formeldiät elektrophoretisch bestimmt.

Es zeigt sich, daß die Werte des Gesamteiweiß und der einzelnen Eiweißfraktionen innerhalb der durch die Methode bedingten angegebenen Normalbereiche liegen. Ein Vergleich der Werte vor der Diät und während der Diät ergibt keine wesentlichen Änderungen. Eine Signifikanz ist nicht zu erkennen.

Tabelle 2 (Seite 13)

Diagramm 1 und 2 (Seite 14, 15)

Tabelle 1

Elektrophoretische Bestimmung der Bluteiweißwerte bei normaler Ernährung und bei Formeldiät

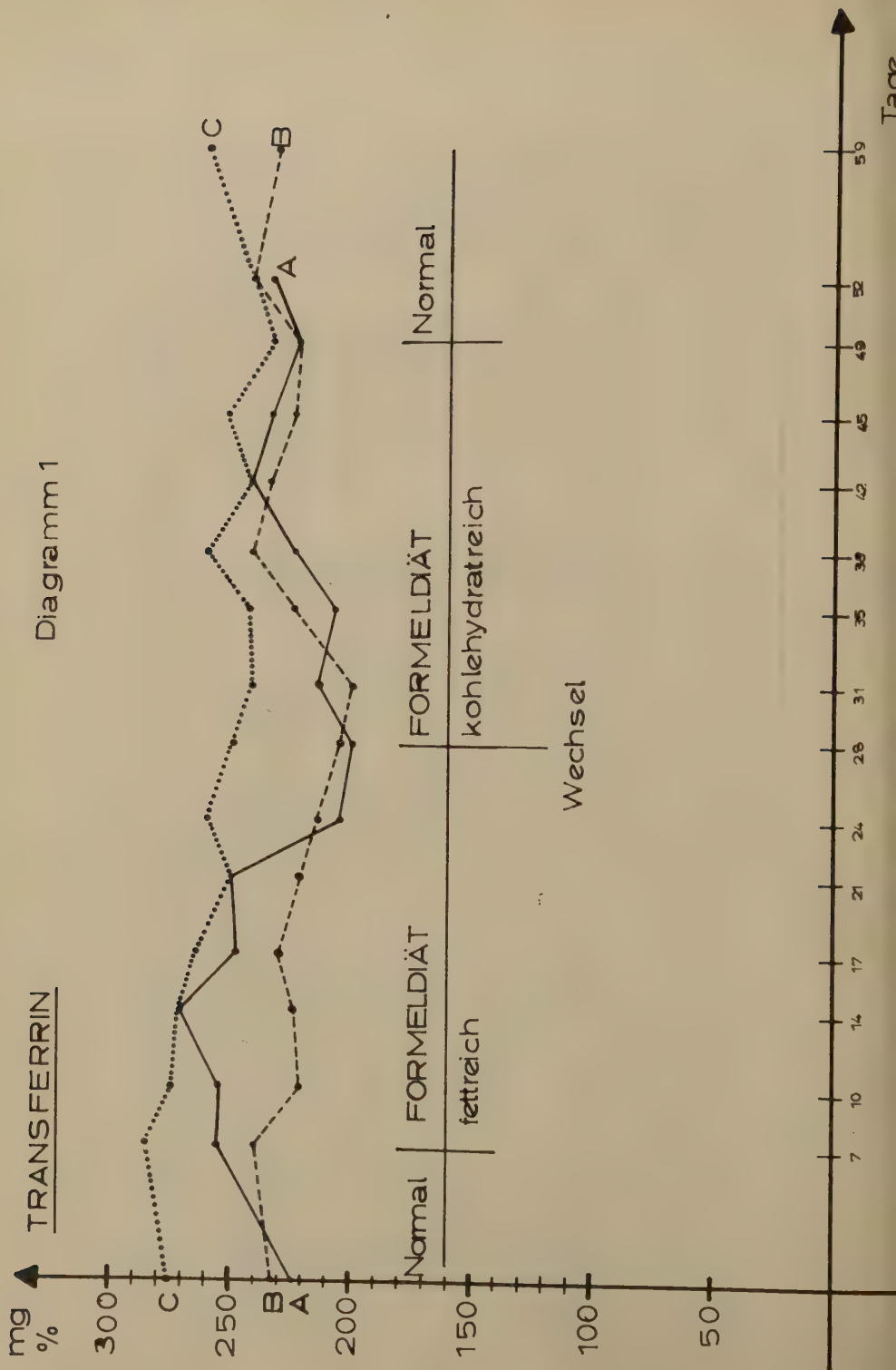
Relativ-Werte, Norm $\pm 2\%$	Ernährung	Person					
		A	B	C	D	E	F
Albumin	59 - 72 %	62,4 64,5	64,4 65,6	57,3 60,4	60,8 65,2	61,3 65,6	66,0 67,1
α_1	1,8 - 4,2 %	3,9 3,5	3,1 2,3	3,7 3,0	3,9 2,7	4,5 3,3	2,2 2,8
α_2	5,5 - 11 %	9,6 9,7	9,1 9,3	8,8 8,5	7,5 6,7	7,4 6,1	8,2 8,0
β	5,5 - 12 %	9,4 8,6	9,0 9,5	9,8 9,6	9,3 7,5	8,3 7,9	9,7 8,2
γ	9,5 - 18,5 %	14,7 13,7	13,9 13,0	20,4 18,6	18,6 17,9	18,6 17,1	14,0 14,1
Gesamt Eiweiß		6,94 7,13	6,59 6,87	7,88 7,22	7,4 7,13	6,45 6,91	7,2 7,65
γ 80 %		1,02 0,98	0,91 0,88	1,61 1,34	1,38 1,27	1,20 1,18	1,01 1,08

T a b e l l e 2

Transferrin in mg % bei Formeldiät

(Wechsel der Diätzusammensetzung nach 3 Wochen von fettreich zu kh-reich bzw. umgekehrt)

Formeldiät	Ta- ge	Person						Formeldiät
		A	B	C	D	E	F	
normal	0	223	231	275	240	231	275	normal
	7	256	240	285	223	248	275	
Fett	10	256	223	275	223	240	285	KH
	14	271	225	271	225	225	253	
	17	248	231	265	248	240	240	
	21	250	223	250	223	215	250	
	24	206	215	260	223	223	233	
Wechsel	28	200	206	250	233	223	223	Wechsel
KH	31	215	200	242	233	233	233	Fett
	35	208	225	243	225	225	271	
	38	225	243	261	235	225	261	
	42	243	235	243	216	216	235	
	45	235	225	253	216	216	235	
	49	225	225	235	225	192	235	
normal	52	235	243	243	235	200	243	normal
	59	-	243	243	235	200	-	

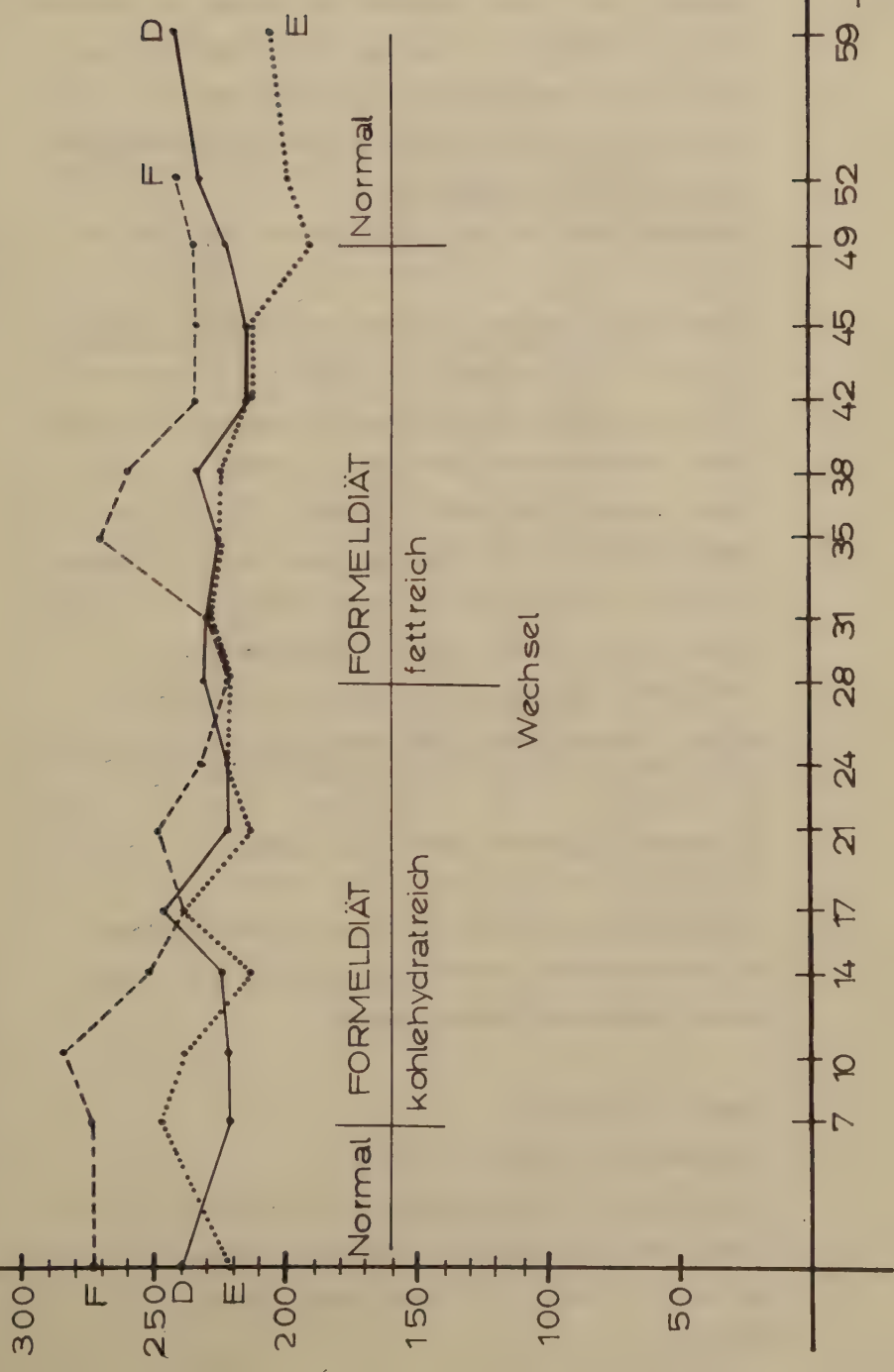


mg %



TRANSFERRIN

Diagramm 2



Tag

Diagramm 1 und 2 zeigen graphisch den Verlauf der Transferinwerte von Tabelle 2. Diagramm 1 stellt die Werte von A, B, C, bei zunächst normaler Ernährung, dann die 1. Periode (fettreich), die 2. Periode (kohlenhydratreich) und wieder die Normalernährung dar.

Diagramm 2 zeigt das entsprechende für die Probanden D, E, F.

Rein graphisch zeigt sich bei allen 6 Probanden, unabhängig von der Art der Formeldiät, ein Sinken mit zeitweiliger Stagnation oder leichtem Anstieg. Die Veränderungen in den Kurven verlaufen nicht gleichzeitig, sondern bei jeder Person während eines anderen Zeitintervalls. Insgesamt läßt sich als Trend ein leichtes Fallen der Werte während der Diät feststellen, das bei Wiederaufnahme von Normalkost aufhört. Die Transferrinwerte steigen dann wieder an.

Die folgende Tabelle zeigt die Abnahme der Transferrinwerte in Prozent in Bezug auf Anfang und Ende des Versuches.

Person	A	B	C	D	E	F
Abnahme in %	4,26	6,4	12,9	5,0	15,0	14,5

Zur Berechnung wurde der Mittelwert aus den Normalwerten vor dem Versuch und der Mittelwert aus den zwei letzten Werten während des Versuchs genommen.

Tabelle 3 (Seite 17)

Diagramm 3 und 4 (Seite 18, 19)

Diagramm 3 und 4 zeigen graphisch den Verlauf der α_1 -anti-Trypsin-Werte von Tabelle 3. Sie stellen wieder die Werte von A, B, C, und D, E, F, unter demselben Modus wie bei Transferrin dar.

T a b e l l e 3

α_1 -anti-Trypsin in mg % bei Formeldiät

(Wechsel der Diätzusammensetzung nach 3 Wochen von fettreich zu kh-reich bzw. umgekehrt)

Formeldiät	Ta- ge	Person						Formeldiät
		A	B	C	D	E	F	
normal	0	230	102	183	176	176	163	normal
	7	223	140	202	210	183	170	
Fett	10	216	135	202	216	183	176	KH
	14	247	175	215	225	192	183	
	17	292	194	258	247	225	225	
	21	292	183	236	247	236	236	
	24	330	152	196	210	223	230	
	28	305	183	215	247	280	330	
Wechsel	31	317	158	236	236	258	317	Wechsel
KH	35	275	210	203	238	267	267	
	38	298	189	230	210	238	245	
	42	305	176	223	216	245	245	
	45	298	165	238	216	238	230	
	49	267	165	230	223	238	252	
normal	52	267	165	230	223	230	230	normal
	59	-	134	203	203	216	-	

Diagramm 3

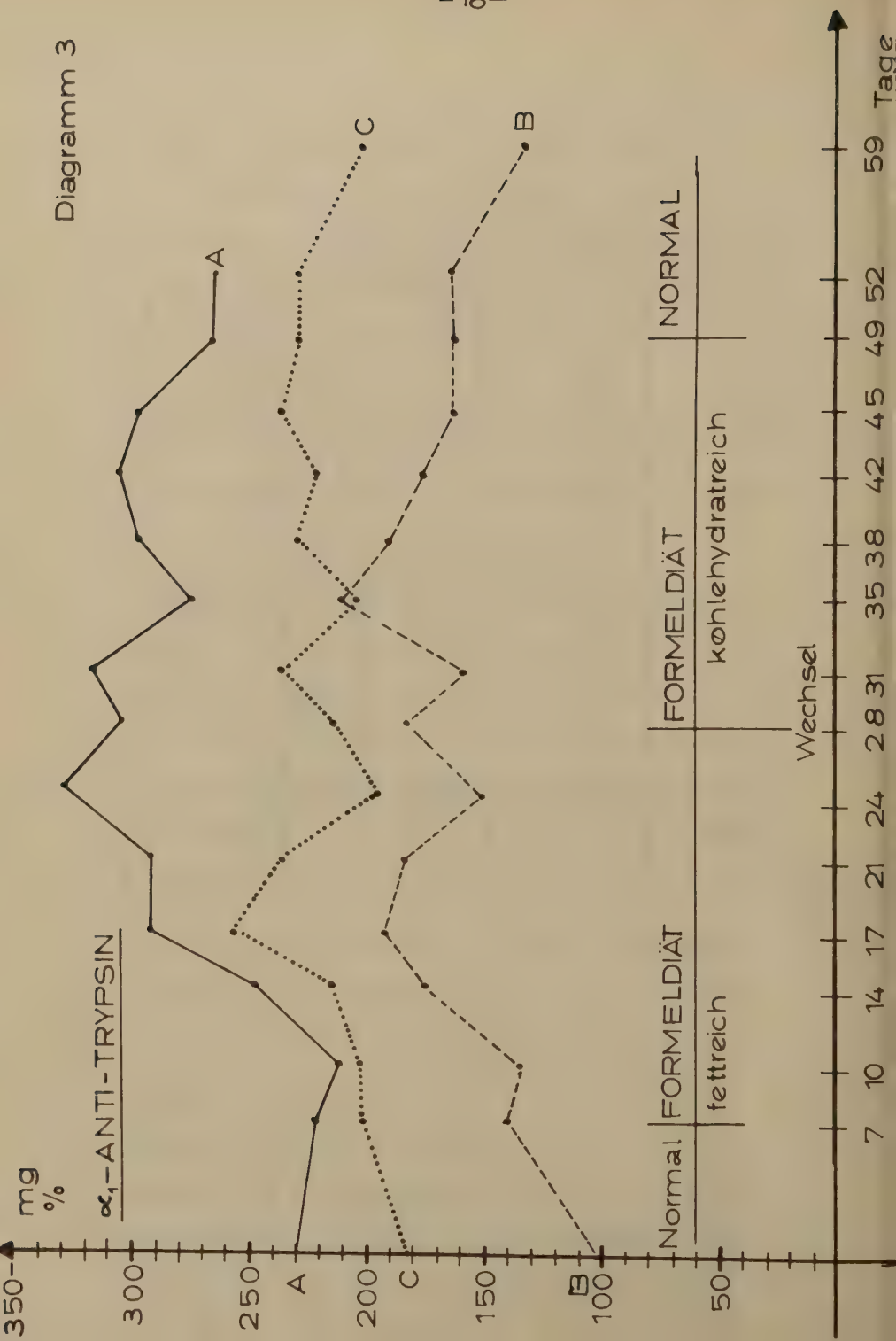
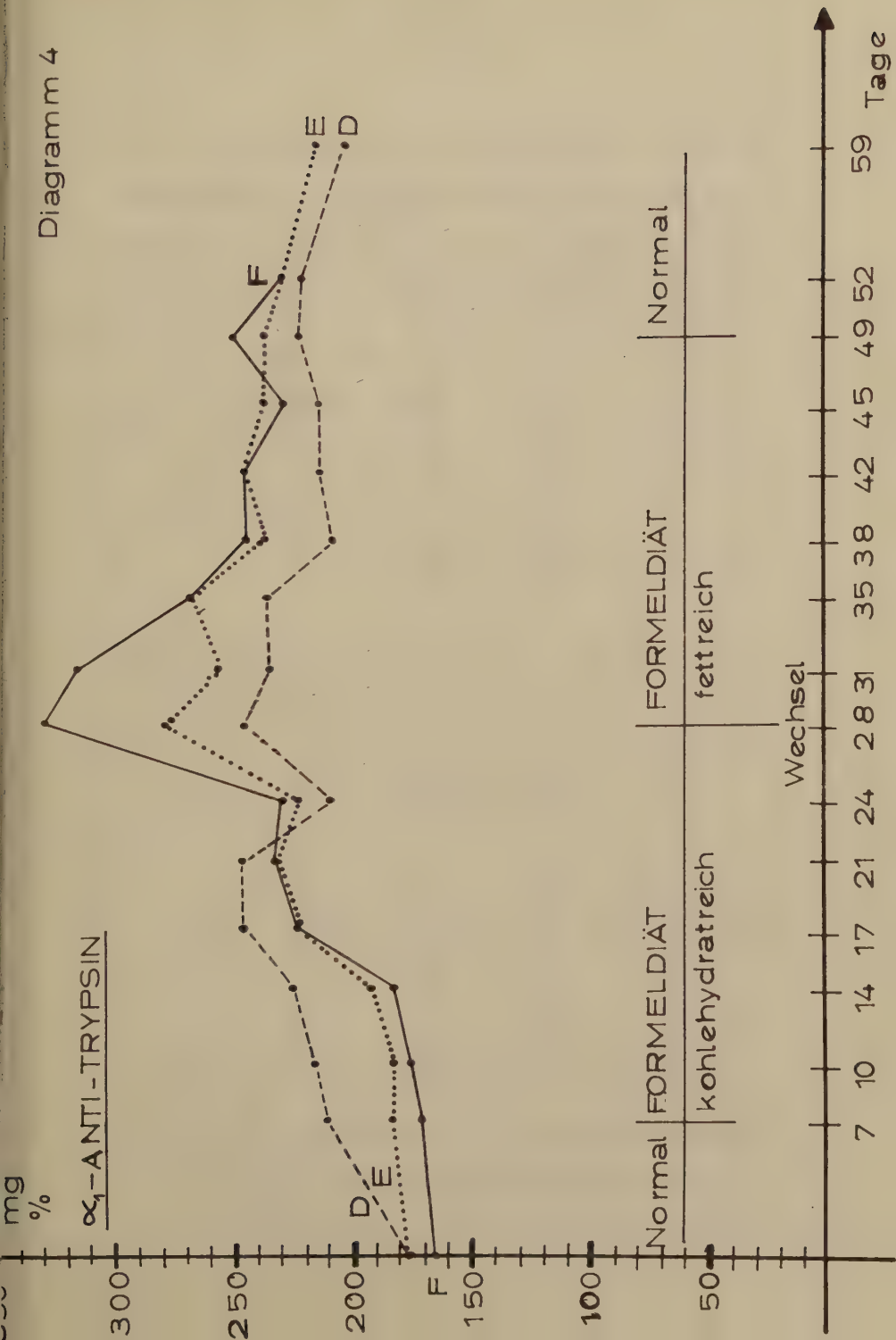


Diagramm 4



Bei allen 6 Versuchspersonen steigen die Werte des α_1 -anti-Trypsingehalts im Durchschnitt deutlich an. Wiederum zeigt sich keine Abhängigkeit von der Zusammensetzung der Diät. Die Veränderungen der Kurven laufen bei den 6 Probanden in größeren Zeitabschnitten ähnlich. Bemerkenswert ist ein Ansteigen, besonders bei Person E und F, nach 3 Wochen beim Wechsel der Diät. Im Verlauf der 2. Periode nehmen die Konzentrationen wieder ab. Die Werte am Ende der Diät liegen jedoch noch sichtbar höher, als die zu Anfang. Person A zeigt am 21. Tag ein Ansteigen, das sich durch einen entzündlichen Prozeß erklären läßt (siehe Diskussion).

Die folgende Tabelle zeigt die Zunahme der α_1 -anti-Trypsin-Werte in Prozent in Bezug auf Anfang, Mitte und Ende des Versuchs.

Person	Zunahme in %					
	A	B	C	D	E	F
Versuchs- mitte	37,0	40,0	17,2	24,9	49,5	93,5
Versuchs- ende	24,6	36,4	21,8	14,0	32,2	44,1

Zur Berechnung wurde der Mittelwert aus den Normalwerten vor dem Versuch, der Mittelwert der Werte in der Mitte des Versuchs am 28. und 31. Tag, sowie der Mittelwert aus den zwei letzten Werten während des Versuchs genommen.

Tabelle 4

Transferrin in mg % bei fettreicher bzw. kh-reicher Formeldiät

Person	fettreich		kh-reich	
	1.	2.	1.	2.
A	250	250	243	243
	206	206	235	261
B	223	223	235	235
	215	215	225	243
C	250	260	243	271
	260	260	253	253
D	216	243	223	223
	216	225	223	223
E	216	216	215	215
	216	216	223	223
F	235	261	250	260
	235	235	233	233

α_1 -anti-Trypsin

Person	fettreich		kh-reich	
	1.	2.	1.	2.
A	292	292	305	290
	330	330	298	305
B	183	173	176	170
	152	173	165	165
C	236	225	223	238
	196	225	238	245
D	216	230	247	236
	216	230	210	247
E	245	230	236	236
	238	252	223	258
F	245	252	236	225
	230	238	230	247

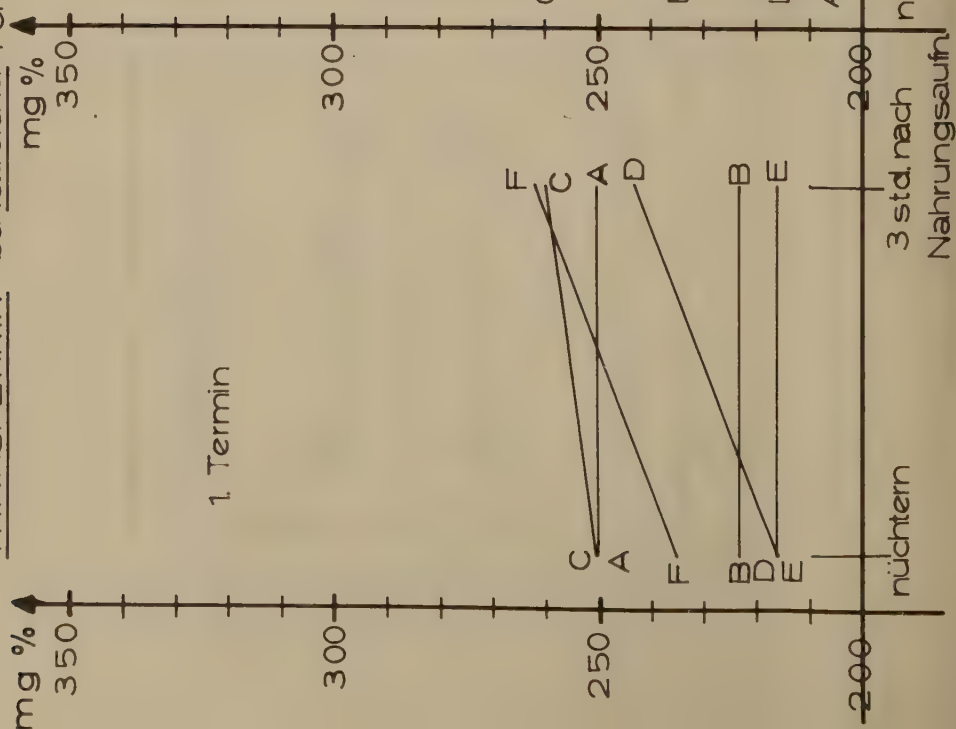
1. = Blutentnahme bei nüchternem Magen

.. = Blutentnahme ca. 3 Stunden nach Nahrungsaufnahme

TRANSFERRIN bei fettreicher Formeldiät

nüchtern und 3 Stunden
nach Nahrungsaufnahme

Diagramm 5



TRANSFERRIN

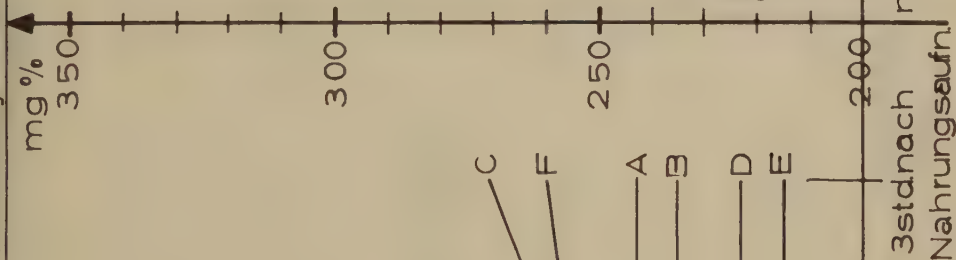
bei kohlehydratreicher Formeldiät nüchtern und 3std.

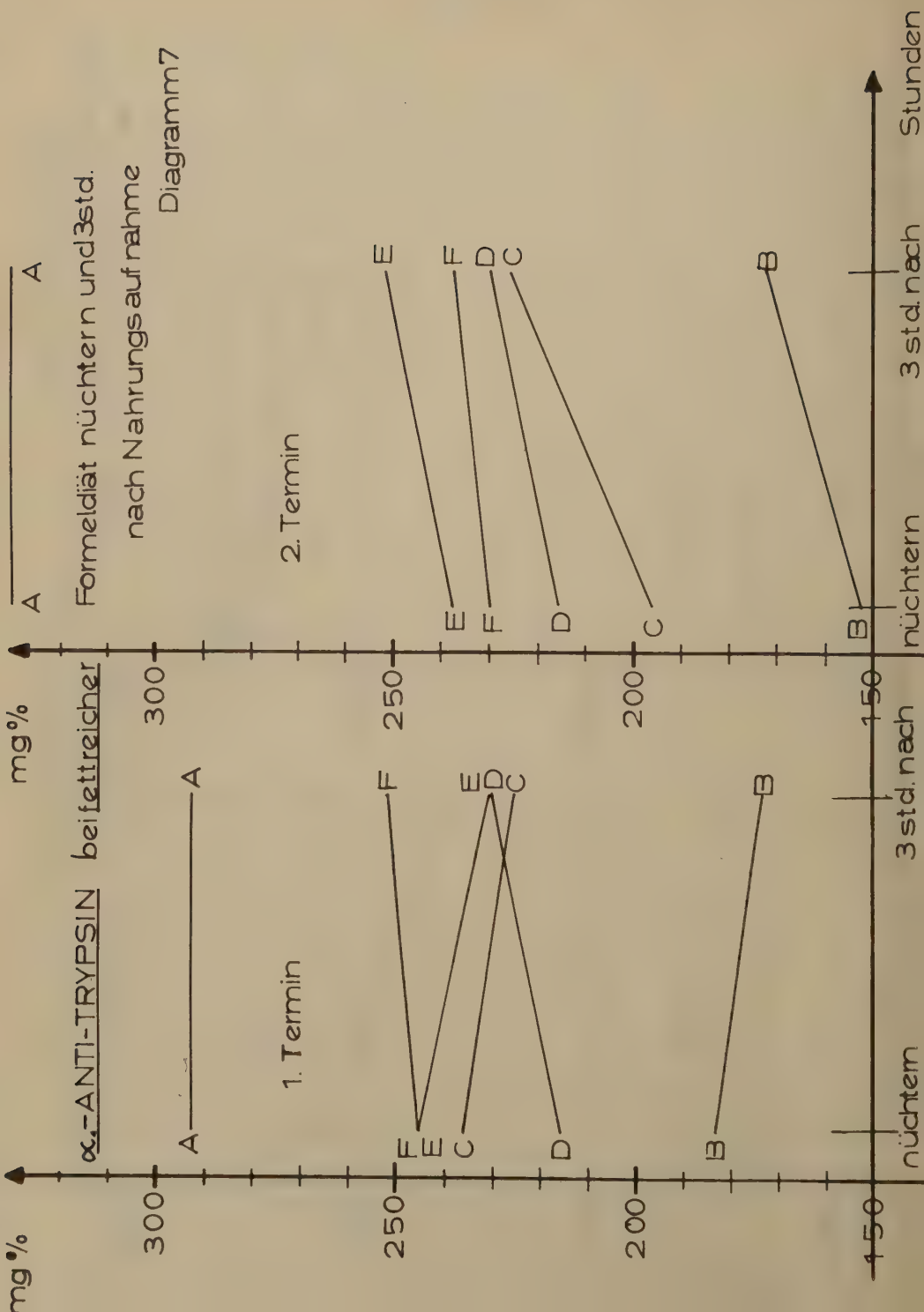
nach Nahrungsaufnahme

Diagramm 6

1. Termin

2. Termin





α_1 -ANTI-TRYPsin bei kohlehydratreicher nach Nahrungsaufnahme

Diagramm 8

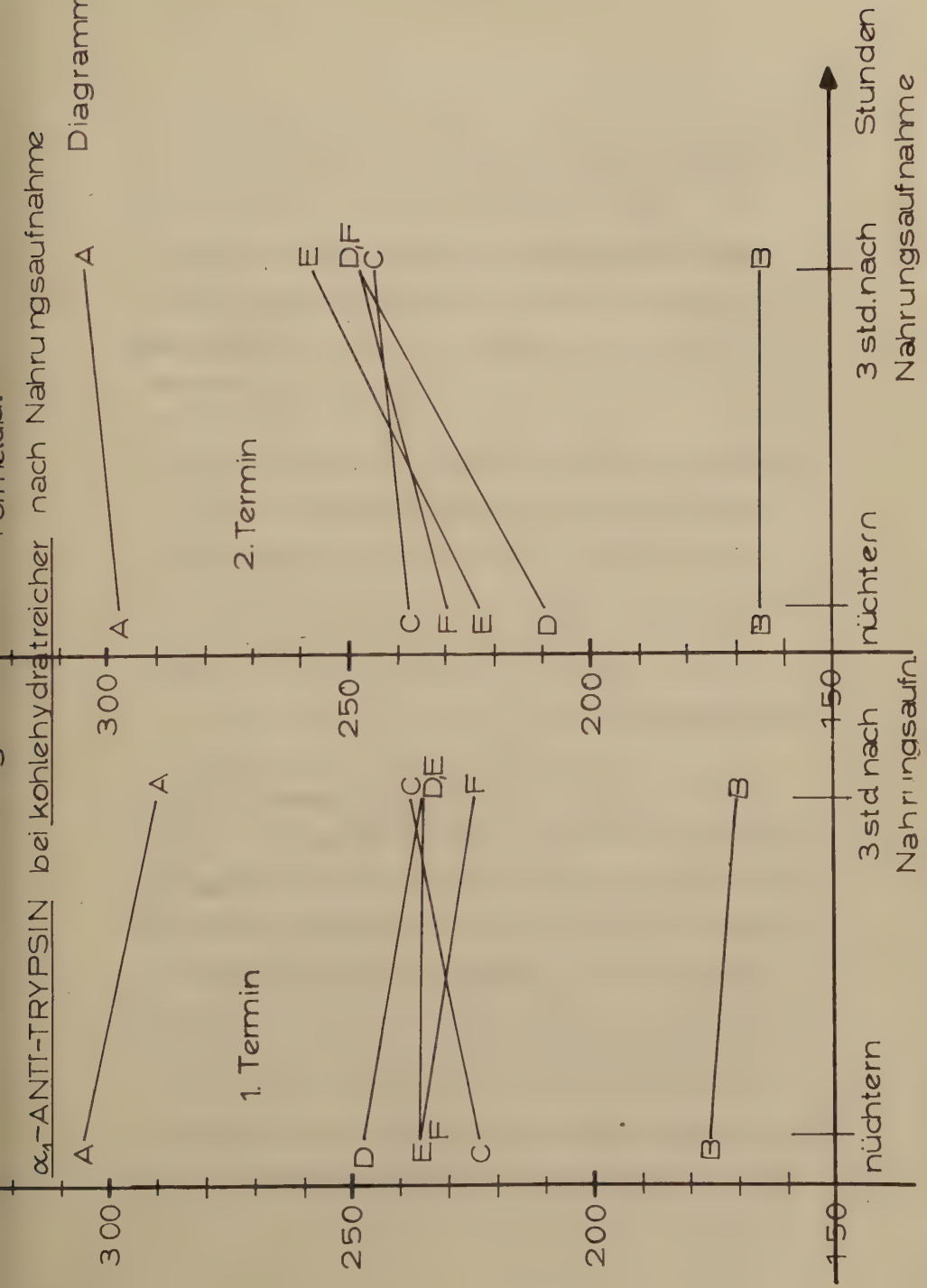


Tabelle 4 (Seite 21)

Diagramm 5 - 8 (Seite 22 - 25)

Tabelle 4 und Diagramm 5 - 8 zeigen den Verlauf der Konzentrationen von Transferrin und α_1 -anti-Trypsin bei fettreicher und kohlenhydratreicher Formeldiät bei Blutentnahme in nüchternem Zustand und 3 Stunden nach Nahrungsaufnahme.

Transferrin bleibt 16 mal gleich und steigt 8 mal an, unabhängig von der Zusammensetzung der Nahrung.

α_1 -anti-Trypsin bleibt 4 mal gleich, steigt 13 mal an und fällt 7 mal, wieder unabhängig von der Diätform.

IV. Diskussion

Der genaueste Parameter für die Eiweißbilanz ergibt sich durch das Aufstellen einer Stickstoffbilanz. Dieses Verfahren ist jedoch sehr umständlich, aufwendig und ambulant schlecht durchführbar. Wir haben deshalb als Parameter der Eiweißversorgung Proteinfractionen im Serum bestimmt.

Die Ergebnisse der Bestimmungen der Gesamteiweißkonzentrationen und der einzelnen Fraktionen, welche mit der Elektrophorese aufgetrennt wurden, haben unsere Erfahrungen und Erwartungen bestätigt. Die Werte zeigen keine Veränderung, bzw. die Veränderungen sind methodisch bedingt.

Da das Gesamteiweiß in einzelne Fraktionen und diese wiederum in viele Untergruppen geteilt sind, ist es möglich, daß sich Zunahme und Abnahme der Konzentrationen in den Untergruppen oder Fraktionen egalisieren oder Überlagern, sodaß die Werte der Fraktionen bzw. des Gesamteiweißes nur den Ausdruck der Summe von Veränderungen darstellen(2).

Üblicherweise wird Transferrin indirekt über die Eisenbindungskapazität gemessen, dies ist jedoch ein mit erheblichen Fehlern belastetes Verfahren. Nach den Erfahrungen einiger Autoren ist die Meßgenauigkeit der RID-Methode bei einer Fehlerbreite von 10 - 15 % für eine biologische Untersuchungsmethode gut (29). MANCINI, CARBONARA und HEREMANS (26) geben den Fehler ihrer Methode mit kleiner als $\pm 2\%$ an. Dieser Wert wurde im immunochemisch besonders stabilen Albumin-Antialbuminsystem ermittelt.

Da es bei unserer Bestimmung nicht auf absolute Werte ankommt, sondern auf den relativen Verlauf der Werte über die Zeit der Diät, ist eine eingehendere Fehlerbetrachtung nicht notwendig. Es wurde immer von derselben Person das Meßergebnis abgelesen, so daß auch subjektive Fehler, z.B. Parallaxenfehler, aus dem oben erwähnten Grund zu vernachlässigen sind und das Endergebnis nicht entscheidend beeinflussen.

Wie die Ergebnisse zeigen, hat die Zusammensetzung der Diät keinen Einfluß auf die Transferrin- und α_1 -anti-Trypsin-Spiegel im Serum. Gleichgültig ob fettreiche oder kohlenhydrat-

reiche Diät verabreicht wurde, zeigt sich eine geringe Abnahme, bzw. bei α_1 -anti-Trypsin ein Anstieg.

In dem verabreichten Vitaminpräparat war kein Eisen enthalten, so daß über die Dauer der Diät, außer den in der zum Zubereiten notwendigen Wassermenge minimal vorhandenen Eisensparten, kein Eisen zugeführt wurde. Die tägliche Ausscheidung von Transferrin im Harn in der Größenordnung von 0,22 mg (30), sowie Eisenausscheidungen durch den Dickdarm, die Nieren und die Haut haben keinen nennenswerten Einfluß auf die Konzentration von Transferrin im Serum (40).

Da nur insgesamt 300 ml Blut entnommen wurden, und männliche Individuen über eine Eisenreserve von 1000 mg/l verfügen, welche zur spontanen Regeneration von 1 - 2 l Blut ausreichen (40), konnte keine Eisenmangelsituation entstehen, welche sich durch eine deutliche Vermehrung von Transferrin anzeigt (3). Die Ergebnisse bestätigen dies.

Bei langwährender physischer Belastung ist eine signifikante Vermehrung von verschiedenen Serumproteinen festgestellt worden, so auch von Transferrin und α_1 -anti-Trypsin.

Diese Veränderungen stehen nicht in direktem Zusammenhang mit der Vermehrung des Gesamtproteingehalts (31). Daß die Versuchspersonen während der Diät unter einer physischen Belastung standen, da alle weiterhin praktisch in ihrer Ausbildung tätig waren, kann nicht als Erklärung herangezogen werden. Die Versuchspersonen standen vorher unter

der gleichen physischen Belastung.

Bei "normalen" Personen bewegt sich die Konzentration jedes Proteins über längere Zeit innerhalb einer gewissen biologischen Schwankungsbreite (32). Bei verschiedenen physiologischen und pathologischen Prozessen unterliegt das Transferrin erheblichen Schwankungen (3). Während der Diät fiel die Transferrinkonzentration durchschnittlich um 9,5 %. Dies bedeutet keine deutliche Veränderung.

Da die Versuchsdauer mit 42 Tagen in Anbetracht der Halbwertszeit von Transferrin von 6 - 12 Tagen ausreichend war, und nach Ablauf der Halbwertszeit keine auffallende Veränderung eintrat, läßt sich daraus schließen, daß die Transferrinsynthese im Verlauf der Diät zufriedenstellend weiterlief.

α_4 -anti-Trypsin scheint, wie die Ergebnisse zeigen, erheblicheren Schwankungen zu unterliegen als Transferrin. Dies ist schon durch die größere Standardabweichung gekennzeichnet (3, 7, 38).

Aus einer Veröffentlichung (39) geht hervor, daß die Bestimmung des α_4 -anti-Trypsins durch radiale Immundiffusion bei Zusatz von Trypsin durch das Auftreten eines zweiten Präzipitatringes kompliziert wird.

In unserem Falle war Trypsin in den Seren enthalten und es hat sich der oben erwähnte zweite Präzipitatring mehr oder weniger stark gezeigt, was das Ablesen erschwerte und die Möglichkeit eines methodischen Fehlers begünstigte.

Nach drei Wochen war die Stabilität der von den Behring-Werken gelieferten α_1 -anti-Trypsin-Lösung vermindert, so daß die Chargen sofort ausgetauscht wurden.

Der Anstieg der α_1 -anti-Trypsin-Konzentration bei Person E und F nach 3 Wochen könnte von diesen Faktoren beeinflusst sein und ließe sich somit als methodisch bedingt erklären.

Auch bei α_1 -anti-Trypsin zeigt sich, daß die Nahrungszusammensetzung keinerlei Einfluß auf den Verlauf der Konzentration im Serum hat. Der Anstieg der Konzentrationen bei Person E und F zum Zeitpunkt des Wechsels von kohlenhydratreicher zu fettreicher Diät läßt sich nicht auf die Änderung der Diätumstellung zurückführen, wenn man den Verlauf der Konzentrationen der anderen Versuchspersonen zum Vergleich heranzieht.

Es ist ebenso unwahrscheinlich, daß der Konzentrationsanstieg bei Person E und F in Zusammenhang mit der Umstellung von Normalkost auf Formeldiät bzw. mit dem Wechsel von fettreicher auf kohlenhydratreiche Formeldiät steht, da α_1 -anti-Trypsin eine Halbwertszeit von 5 - 6 Tagen hat und daraus resultierende Veränderungen schon früher bzw. später festzustellen gewesen wären.

Person A hatte nach 14 Tagen eine akute, durch Viren bedingte Entzündung der Augenschleimhäute. Die deutlich sichtbare Erhöhung des α_1 -anti-Trypsingehalts zu diesem Zeitpunkt bestätigt seine Bezeichnung als "Entzündungs-Protein" (38).

Im Durchschnitt hat sich bei α_1 -anti-Trypsin ein Anstieg der Konzentration ergeben, wodurch sich zeigt, daß die Synthese durch die Diät nicht vermindert wurde.

Die Ergebnisse aus den Untersuchungen von Nüchternblut und Blut, welches 3 Stunden nach Nahrungsaufnahme entnommen wurde, erlauben keinen Schluß und sind für die Aussage über die Vollwertigkeit der Formeldiät nicht heranzuziehen. Es zeigt sich nur, daß das Transferrin stabiler zu sein scheint als das α_1 -anti-Trypsin.

In Bezug auf das Körpergewicht konnte die gestellte Bedingung, nämlich gleichbleibendes Gewicht bei isocalorischer Ernährung, gehalten werden. Es trat während der gesamten Versuchsdauer kein Gewichtsverlust ein, der bedeutend wäre. Im Durchschnitt betrug die Gewichtsabnahme 3,1 %, maximal 6 %. Insofern beeinflußt der Gewichtsverlauf die Ergebnisse der Eiweißkonzentrationen nicht. Die Diät kann auch, was das Körpergewicht anbetrifft, als vollwertig bezeichnet werden.

Aus Stoffwechselstudien von RAPOPORT, FROM und HUSDAN (2) gehen verschiedene Ergebnisse hervor in Bezug auf den Verlauf der Gesamteiweißkonzentration und den einzelner Eiweißfraktionen bei Fasten, welches ebenfalls eine Form von Diät darstellt. Dabei zeigt das Gesamteiweiß unterschiedliches Verhalten, nämlich daß es in der ersten Woche steigt und nach

14 Tagen zum Ausgangspunkt zurückkehrt oder 3 Wochen gleichbleibt und dann langsam fällt oder die ganze Zeit des Versuchs über unverändert bleibt. Letzteres bestätigt unsere Erfahrung mit den elektrophoretisch getrennten Eiweißfraktionen. Andere Berichte (2) zeigen, daß selbst bei totalem Nahrungsentzug zunächst keine Änderung der Serumproteine festgestellt wurden. Bei Untersuchungen an Ratten (2) zeigte sich, daß nach 7 Tagen Nahrungsentzug die Leber 40 % an Eiweiß verloren hatte, während der Verlust bei Muskeln, Haut, Skelett nur je 8 % betrug.

Deswegen ist es Überraschend, daß bei hungernden Menschen die Leber nicht nur fähig ist, die Proteinsynthese adäquat aufrecht zu erhalten, sondern oft noch in einer sogar gesteigerten Rate (2).

Wenn man beachtet, daß die obigen Ergebnisse bei kalorienloser Diät gewonnen wurden, können wir sagen, daß weder die kohlenhydratreiche noch fettreiche Formeldiät die Eiweißsynthese merklich beeinträchtigen. (Die Betonung kohlenhydrat- und fettreich ist deswegen wichtig, weil im Energiestoffwechsel - nicht jedoch im Baustoffwechsel - sich Kohlenhydrate, Lipide und Proteine innerhalb gewisser Grenzen vertreten können (36)).

Es ist keine definierte Aussage darüber möglich, ob es sich bei den Schwankungen der Transferrin-Konzentrationen um die Folge eines Anabolismus oder Katabolismus handelt (3).

Im Verlauf des Versuchs treten keine größeren Mangelsituationen auf. Dies bestätigt die Vollwertigkeit der zugeführten Formeldiät.

V. Zusammenfassung

Mit Eiweißfraktionen im Serum als Parameter, speziell Transferrin und α_1 -anti-Trypsin, sollte die Vollwertigkeit einer Formeldiät untersucht werden.

Das Spurenprotein Transferrin ist ein empfindlicher Parameter der Eiweißversorgung des Menschen. Transferrin und α_1 -anti-Trypsin wurden mit Hilfe der RID-Methode (Radiale Immundiffusion) bestimmt. Mit dieser Methode können noch Konzentrationschwankungen von $\pm 10 - 15 \text{ mg\%}$ erfaßt werden.

Sechs junge gesunde Versuchspersonen wurden sechs Wochen lang mit einer kohlenhydratreichen oder fettreichen Formeldiät ernährt.

Die Gesamteiweißkonzentration und die durch Elektrophorese getrennten Eiweißfraktionen zeigten vor und während der Diät keine Veränderung.

Die Transferrinspiegel fielen bis zum Versuchsende um im Durchschnitt $9,6 \%$ ab.

Die Werte für α_1 -anti-Trypsin stiegen zunächst an und fielen dann wieder ab, wobei jedoch die Werte am Ende der Formeldiät mit im Durchschnitt 29% noch deutlich höher lagen, als die zu Anfang.

Im Verlauf des Versuches traten keine größeren Mangelsituationen auf. Dies bestätigte die Vollwertigkeit der zugeführten Formeldiät.

VI. Literaturverzeichnis

- 1 H. Kasper, H.A. Kühn
Medizin und Ernährung 11 (1970, 3:52)
- 2 A. Rapoport, G.L.A. From and H. Husdan
Metabolic Studies in Prolonged Fasting
II. Organic Metabolism Vol. 14, No. 1 (January) 1965
- 3 J. Rentsch Quantitative immunologische Transferrin-
bestimmung Klinische Wochenschrift 47. Jahrgang,
8. Heft, 15. April 1969, S. 433 - 437
- 4 Holmberg C.G. u. C.B. Laurell: Ferritin Acta med.
scand. 1, 944 (1947)
- 5 R.W. Reinhart u. H. Levy: Siderophilin Arch. Bio-
chem. 20, 1970 (1949)
- 6 Boehring-Werke: Konzentrationen von Plasmaeiweißen
- 7 Rapp W., Schwick H.G., Störiko K.: Methoden zur quanti-
tativen Bestimmung von Plasmaproteinen durch Immunprä-
zipitation Z.klin.chem. 6, 133 (1968) Heft 3
- 8 Schultze, H.E. Heide, K. Haupt: Über ein bisher unbe-
kanntes niedermolekulares β_2 -Globulin des Humanserums.
Naturwissenschaften 48, 719 (1961)
- 9 Bambach M.N.: Untersuchungen zur Transferrinbestimmung
Klin. Wschr. 44, 1276 (1966)

- 10 Gitlin, D.C.A. Janeway and L.E. Farr: Studies on the metabolism of plasmaproteins in nephrotic syndrom
J.clin.Invest. 35, 44 (1956)
- 11 H.G. Schwick: Spurenproteine des menschlichen Plasmas
ärztl. Fortbildung 21. Jahrgang 1971 Heft 6
- 12 Laurell, C.B.: Serumproteine und Eisentransport
W. Keiderling, Eisenstoffwechsel. Stuttgart: Georg Thieme 1959
- 13 Jandl, J.H. and J.H. Katz: The plasma-to-cell cycle of transferrin. J.clin.Invest. 42, 314 (1963)
- 14 Hitzig, W.A.: Die Plasmaproteine in der klinischen Medizin. Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1963
- 15 S. Makino und C.E. Reed: Verteilung und Ausscheidung von exogenem α_1 -Anti-Trypsin. J.Lab.clin. Med. 75, 742 (1970)
- 16 N. Heimburger u. H. Haupt: Zur Spezifität der Antiproteinasen des Humanplasmas für Elastase. Klin.Wochenschrift 44.Jahrg. Heft 20 (1966)
- 17 Störiko, K.: Normal values for 23 different human plasma proteins determined by single radial immunodiffusion. Blut 16, 200 (1968)
- 18 Schultze H.E., K. Heide u. H. Haupt: α_1 -anti-Trypsin aus Humanserum. Klin. Wschr. 40, 427 (1962)

- 19 Schwick G., N. Heimbürger u. H. Haupt: Antiprotein-
asen des Humanserums Z.ges.im.Med. 21, 193 (1966)
- 20 Augener, W.: Proc. 12 th Coll. Protides biol. Fluids
Brügge 1964, 363 (1965)
- 21 Henning Norbert: Klinische Laboratoriumsdiagnostik
Urban u. Schwarzenberg München-Berlin-Wien
- 22 Kohn, J.: Clin.Chim. Acta (Amsterdam) 2, 1957, 297
- 23 Bechhold, H.: Z.Phys.Chem. 52 (1905) 185
- 24 Kraus, R.: Wiener Klin.Wschr. 10 (1897) 736
- 25 Rentsch, J.: Quantitative Serumproteinbestimmung
Med.Welt (Stgt.) 33, 1779 (1969)
- 26 G. Mancini, A.O. Carbonara, and J.F. Heremans:
Immunochemical quantitation of antigens by single
radial immunodiffusion. Immunochemistry 2, 235 (1965)
- 27 Schwick, H.G.: Quantitative Immunpräzipitation zur
Bestimmung einzelner Plasmaproteine. 15. Colloquium
der Gesellsch.f. Physiologische Chemie, Mosbach,
S. 55 - 72. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1965
- 28 Behringwerke AG : M-Partigen, Immundiffusionsplatten zur
quantitativen Plasmaproteinbestimmung
- 29 P.G. Scheuerlein: Differentialdiagnostische Bedeutung
von Serumeiweißuntersuchungen. "Der Internist" 9.Jahrg.
2.Heft 1968 S. 56 - 67, Springer Verlag Berlin

- 30 Poortmans, J.R.: Der Gehalt an Plasmaproteinen im normalen menschlichen Urin. Proc. 16th Coll. Protides biol. Fluids Brügge 1968, 603 (1969)
- 31 Haramlambie, G.: Veränderungen der Glykoprotein-Konzentrationen im Serum nach langwährender physischer Belastung. Clin.chim.Acta (Amsterdam) 27, 475 (1970)
- 32 M. Allansmith, B. Mc Clellan u. M. Butterworth, Proc.Soc.exp.Biol.Med. 125, 404 (1967)
- 33 Drenick, E.J., Swendseid M.E., Bland W.H., and Tuttle S.G.: Prolonged Starvation as treatment for severe obesity. J.A.M.A. 187:100 (1964)
- 36 E. Buddecke, Grundriß der Biochemie.
- 37 Erich P. Schütterle, Grundbegriffe der Ernährungslehre und Krankenernährung, Urban u. Schwarzenberg
- 38 H. Geiger und P. Hoffmann: Quantitative immunologische Bestimmung von 16 verschiedenen Serumproteinen bei 260 normalen, 0 - 15 Jahre alten Kindern. Zeitschrift für Kinderheilkunde 109, 22 - 40, (1970)
- 39 Becker W., N. Heimburger, H.G. Schwick und K. Störko: Immunologische Bestimmung biologisch aktiver Plasmaproteine. 7. Intern.Kongr.Klin.Chem. Genf/Evian 1969 (1) 144 (1970)
- 40 Jasinski/Roth: Die lavierte Eisenmangelkrankheit. Benno Schwabe u. Co. Verlag, Basel 1954

Mein herzlichster Dank geht an Herrn Priv.Do. Dr. G. Wolfram
für die Bereitstellung des Themas und des Laborplatzes,
sowie für die umfangreiche Unterstützung.

Allen Mitarbeitern von Herrn Priv.Do. Dr. G. Wolfram,
besonders Frau Berger, möchte ich für die vielen kleinen
und großen Hilfen bei meiner Arbeit danken.

Lebenslauf

Geboren: 30.9.1948 in Schwäbisch Hall

Vater: Robert Philipp, Zimmermeister
gestorben 1965

Mutter: Berta geb. Frick
gestorben 1957

1955 - 1959 Volksschule in Untermünkheim

1959 - 1968 Mathematisch-naturwissenschaftliches
Gymnasium in Schwäbisch Hall

1968 - 1970 Ziviler Ersatzdienst in einem Heim
für sozial- und milieugeschädigte Kin-
der in Korntal

seit April 1970: Zahnmedizinstudium an der Universität
München

März 1971: Vorphysikum

Oktober 1972: Physikum

seit Oktober 1972: Zweitstudium in Humanmedizin

Juli 1975: Staatsexamen in Zahnmedizin in München

